

革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業（厚生労働省）

本書は、厚生労働省 革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業の一環として、平成 26 年度に、PMDA の協力を得て、血小板誘導に適したヒト（自己）iPS 細胞の品質に関する留意点と課題（案）を中間的にとりまとめたものです。本書に関するご意見については、京都大学 iPS 細胞研究所医療応用推進室 (ips-promotion@cira.kyoto-u.ac.jp) までお寄せ下さい。今後、寄せられたご意見と、本事業における研究の成果や国内外で集積される最新の科学的知見も踏まえてさらに検討を行う予定です。

血小板誘導に適したヒト（自己）iPS 細胞の品質に関する留意点と課題 （中間とりまとめ）（案）

京都大学 iPS 細胞研究所
臨床応用研究部門 江藤研究室
医療応用推進室

1. はじめに

ヒト由来の人工多能性幹細胞（iPS 細胞）又は人工多能性幹細胞様細胞（iPS 様細胞）のうち、自己由来 iPS 細胞又は iPS 様細胞を加工した製品（以下「ヒト（自己）iPS（様）細胞加工製品」という。）の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件は、平成 24 年 9 月 7 日付け薬食発 0907 第 4 号厚生労働省医薬食品局長通知「ヒト（自己）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について」（以下「自己 iPS 細胞局長通知」という。）に定められているところである。

平成 24 年度から厚生労働省・独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「PMDA」という。）により「革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業」が開始された。京都大学 iPS 細胞研究所では、本事業において、血小板製剤の原料として使用するのに適した再生医療用 iPS 細胞の評価方法に関する研究を行っている。本書は、本事業の一環として実施した PMDA との対面助言等の結果を踏まえ、ヒト（自己）iPS 細胞加工製品のうち特に不死化巨核球細胞株を用いて製造される血小板製剤の原料となる末梢血等に由来する iPS 細胞及び不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンクの作製までの工程について、自己 iPS 細胞局長通知の基本的な技術要件に加えて、現時点での血小板製剤の原料として用いる自己由来 iPS 細胞に特有の品質に関する留意点を中間的にとりまとめたものである。

2. 本書の位置づけ

本書は、技術開発の著しい iPS 細胞加工製品を対象とするものであることを勘案し、留意すべき事項を網羅的に示したのではなく、現時点で考えられる点について中間とりまとめとして示している。よって、今後の更なる技術革新や知見の集積等を踏まえ改訂されるものであり、申請内容に関して拘束力を有するものではない。

製品の評価にあたっては、個別の製品の特性を十分理解した上で、科学的な合理性をもって柔軟に対応することが必要である。

なお、本書の他、国内外のその他の関連ガイドラインを参考にすることも考慮すべきである。

3. 用語の定義

本書における用語の定義は、自己 iPS 細胞局長通知の定義による他、以下のとおりとする。

- (1) 不死化巨核球細胞株：iPS 細胞から樹立され、再生能を持ち、血小板を産生する巨核球細胞株。
- (2) シード・セル・バンク：本書では、血小板製剤のマスター・セル・バンク（iPS 細胞由来不死化巨核球細胞株）と区別するため、樹立した iPS 細胞のコロニーを分離して拡大培養し、セル・バンク化したものをシード・セル・バンクと呼ぶこととする。本書で想定する製造工程の概略については別添を参照すること。本シード・セル・バンクのうち血小板への分化誘導に適した iPS 細胞株が、不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンクを樹立するための原料として使用される。

4. 留意すべき事項

- (1) iPS 細胞及び不死化巨核球細胞株の原材料及び製造関連物質の品質管理

①原材料となるヒト細胞の採取

自己 iPS 細胞局長通知第 2 章第 1 の 1 による他、以下の点に留意すること。

a) 投与対象となる患者からの同意取得及び細胞の採取

自己 iPS 細胞由来血小板の投与対象となる患者からは、あらかじめ「臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年厚生労働省告示第 415 号）」及び「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 25 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）」に基づく臨床研究として、患者の同意のもとで、血液等の提供を受け、あらかじめ血小板製剤を作製し、非臨床試験までを行うことができる。この場合、以下の点に留意すること。

- (1) 当初の臨床研究計画には、患者への投与は含まないこと、患者への投与に用いる場合には改めて同意を取得することを説明内容に含めておくこと。

「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和 35 年法律第 145 号。以下「医薬品医療機器等法」という。）」の規定に基づく治験における投与開始又は「再生医療等の安全性の確保等に関する法律（平成 25 年法律第 85 号。以下「再生医療等安全性確保法」という。）」の規定に基づく臨床研究としての再生医療等の提供開始にあたって、患者より、改めて投与についての同意を取得する必要がある。

(2)将来的に作製した血小板製剤を治験に用いる予定である場合には、生物由来原料基準（平成 15 年厚生労働省告示第 210 号。以下「原料基準」という。）第 3 の 1 「ヒト細胞組織原料基準」の規定を遵守しておくこと。将来的に臨床研究として再生医療等の提供を行う予定である場合には、採取段階から再生医療等安全性確保法第 14 条第 2 項（説明及び同意）及び第 15 条（個人情報保護）、同法施行規則（平成 26 年厚生労働省令第 110 号）第 7 条（細胞の入手）、第 16 条（試料の保管）、第 23 条（個人情報保護）等の規定を遵守しておくこと。

なお、患者からの血液等の提供から、それをを用いて作製した自己 iPS 細胞由来血小板の投与までを 1 本の治験計画又は再生医療等提供計画としても差支えない。

b) 試料の保管

樹立した iPS 細胞及び最終製品の品質又は安全性に問題が生じた場合に備えて一定量のドナー由来試料を凍結保管しておくこと。末梢血は、単核球として分離後、他の組織細胞については初代培養したうえで凍結することもできる。

②製造関連物質

原材料となるヒト細胞以外の原材料の取り扱いについては、原則として、原料基準及び自己 iPS 細胞局長通知第 2 章第 1 の 2 による。

「生物由来原料基準の運用について」（平成 26 年 10 月 2 日付け薬食審査発 1002 第 1 号・薬食機参発 1002 第 5 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長・同省大臣官房参事官（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）連名通知。以下「運用通知」という。）1 の（2）に生物由来原料基準に規定される原材料が例示されており、その例 5 に基づくと、不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンクに対する十分な特性解析及びウイルス試験が実施され、その妥当性が審査において確認されれば、マスター・セル・バンク樹立過程で使用された原材料の生物由来原料基準への対応の説明は求められない。マスター・セル・バンクに対する特性解析等の妥当性については、PMDA の薬事戦略相談により確認すること。ただし、不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンク樹立過程及びそれ以前の段階で使用される生物由来の原材料について、原料基準への対応状況に関する情報は可能な限り保持しておくこと

が望ましい。

(2) iPS 細胞及び不死化巨核球細胞株作製工程の製造管理及び品質管理

ヒト（自己）iPS（様）細胞加工医薬品等について、「再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令（平成 26 年厚生労働省令第 93 号。以下「GCTP」という。）」又は「治験薬の製造管理、品質管理等の基準（治験薬 GMP）について」（平成 20 年 7 月 9 日付け薬食発第 0709002 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）は、原則としてマスター・セル・バンクの樹立以降の工程に適用される。従って、本書で想定する別添の製造工程の概略に基づき、医薬品医療機器等法上の再生医療等製品に該当する血小板製剤の原料となる不死化巨核球細胞株をマスター・セル・バンクとして樹立する場合には、マスター・セル・バンクとした当該不死化巨核球細胞株以降の製造工程に GCTP 又は治験薬 GMP が適用され、iPS 細胞作製工程には GCTP 又は治験薬 GMP は適用されない。一方、再生医療等安全性確保法に基づく臨床研究として再生医療等の提供を行う場合には iPS 細胞作製段階から同法第 44 条の規定により定められた事項を遵守する必要があることから、原則として医薬品医療機器等法で用いる不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンクの樹立であっても、再生医療等安全性確保法第 44 条を参考とした管理を行うことが望ましい。

(3) 血小板誘導に適した iPS 細胞の選定

同一ドナー由来の iPS 細胞にも品質にばらつきがあることから、細胞調製施設における iPS 細胞の樹立の際、なるべく多くの iPS 細胞のクローンを分離、拡大培養し、この段階で iPS 細胞のシード・セル・バンクを構築し、次に、iPS 細胞のスクリーニング工程として、一旦、細胞調整施設外で、不死化巨核球への分化誘導及び血小板産生を行ったうえで、血小板誘導に適した iPS 細胞株を選び、改めて選ばれた iPS 細胞株のシード・セル・バンクより、細胞調製施設において不死化巨核球細胞株のセル・バンクを構築することが現時点での標準的な製造フローと想定される。さらに、一旦樹立したヘテロな不死化巨核球細胞株を限外希釈法などによるクローニングにより、また場合によっては iPS 細胞に再度初期化した上で、再度、不死化巨核球に分化誘導して、より均一な不死化巨核球集団から構成されるマスター・セル・バンクを構築することも可能である。

血小板誘導に適した iPS 細胞株の選定について、以下のようなスクリーニング基準が想定される。

a) iPS 細胞の外観

iPS 細胞として適切な形態を有し、未分化状態を維持していること。

b) iPS 細胞の増殖能

iPS 細胞として、適切な増殖能を有すること。

c) 血球系前駆細胞への分化能

iPS 細胞を血球系前駆細胞に分化誘導させたとき、その血球細胞の産生効率が高く、出来た血球細胞の外観が血球系前駆細胞として適切な形態を有していること。

d) 巨核球への分化能、増殖安定性及び血小板産生能

血球系前駆細胞から、さらに巨核球への分化を行い、巨核球としての表面マーカー (CD41a や CD42 b など) 発現を確認した結果、その陽性株の比率が高いこと、かつ継代を繰り返しても巨核球としての機能が維持され、安定な増殖を示すこと。更に血小板産生能とその機能を評価すること。

血球系前駆細胞を巨核球へ分化させるに先立ち、前駆細胞の表面マーカーに基づき巨核球分化への **lineage** にある血球系前駆細胞をセルソーターやビーズ法により分画する事も有効な手段である。

(4) 不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンクの特性解析及び品質評価

不死化巨核球細胞株のマスター・セル・バンクについては、自己 iPS 細胞局長通知第 2 章第 2 の 2 (5) 及び (7) 並びに「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) 製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析について (ICH-Q5D)」(平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知) 等を参考に特性解析及び品質評価を行うこと。以下のような試験項目が想定される。

a) 増殖能

血小板産生に用いる不死化巨核球として、適切な増殖能と巨核球株としての安定性を有すること。

b) 血小板産生能

血小板産生に用いる不死化巨核球として、適切な機能を有する血小板を適切な効率で産生する能力を有すること。

c) 表面マーカー

CD41a と CD42 b 等の巨核球として適切なマーカーの発現及び不適切な分化細胞や未分化の iPS 細胞の残存がないことを確認すること。

d) 核型解析

20 細胞について G バンド染色を行い熟練者が観察した結果、核型が正常であること。FISH により 1 2 番、1 7 番染色体に増幅や転座がないこと。

e) ベクターの残存

iPS 細胞又は不死化巨核球の樹立にウイルスベクターを用いた場合、ウイルスベクターの残存について確認すること。

f) 汚染検査

無菌試験、マイコプラズマ試験及びエンドトキシン試験を行うこと。

g) ウイルス検査

「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」について (ICH-Q5A) (平成 12 年 2 月 22 日付け医薬審第 329 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知) を参考にすること。

h) 造腫瘍性試験

NOG マウス又はヌードラットを被験動物とし、1 匹当たり 10^6 から 10^7 個の巨核球を静脈内に投与し、巨核球が分布する臓器を中心に病理解析を行い、腫瘍形成がみられないこと。

別添：想定される血小板製造工程のフロー

(本書では不死化巨核球マスター・セル・バンクまでの工程を対象とする)

